

# Перспективность сочетания различных детекционных технологий для создания индикации целевых ПБА-тест-систем, выявляющих патогены с максимальными показателями экспрессности, автономности, чувствительности и специфичности

С.Г.Игнатов, С.Ф.Бикетов

ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора, Оболensk, Московская область, Российская Федерация

В обзоре рассматриваются современные методы детекционных технологий для индикации патогенных биологических агентов (ПБА). Анализируются высокочувствительные методы индикации ПБА, сочетающиеся с высокой достоверностью и относительной простотой проведения анализа, применение которых возможно в лабораториях с минимальным оснащением, в том числе полевых и передвижных. На основании проделанного анализа индикации целевых ПБА-тест-систем перспективным сочетанием для выявления патогенов представляется использование магнитной сепарации, магнитофоретической хроматографии и амплификации нуклеиновых кислот (LAMP).

*Ключевые слова:* тест-системы, методы обнаружения патогенов

**Для цитирования:** Игнатов С.Г., Бикетов С.Ф. Перспективность сочетания различных детекционных технологий для создания индикации целевых ПБА-тест-систем, выявляющих патогены с максимальными показателями экспрессности, автономности, чувствительности и специфичности. Бактериология. 2021; 6(4): 79–83. DOI: 10.20953/2500-1027-2021-4-79-83

## The perspective of a combination of various detection technologies for creating an indication of target PBA test systems that detect pathogens with maximum rates of rapidity, autonomy, sensitivity and specificity

S.G.Ignatov, S.F.Biketov

State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology, Obolensk, Moscow region, Russian Federation

The review discusses modern methods of detection technologies for the indication of pathogenic biological agents (PBA). Highly sensitive methods of PBA indication are analyzed, combined with high reliability and relative simplicity of the analysis, the use of which is possible in laboratories with minimal equipment, including field and mobile conditions. Based on the analysis of the indication of target PBA test systems, the use of magnetic separation, magnetophoretic chromatography and nucleic acid amplification (LAMP) seems to be a promising combination for the detection of pathogens.

*Key words:* test-systems, methods for detecting pathogens

**For citation:** Ignatov S.G., Biketov S.F. The perspective of a combination of various detection technologies for creating an indication of target PBA test systems that detect pathogens with maximum rates of rapidity, autonomy, sensitivity and specificity. Bacteriology. 2021; 6(4): 79–83. (In Russian). DOI: 10.20953/2500-1027-2021-4-79-83

### Для корреспонденции:

Игнатов Сергей Георгиевич, доктор биологических наук, главный научный сотрудник лаборатории нанобиотехнологии ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора,

Адрес: 142279, Московская обл., г.о. Серпухов, р.п. Оболensk, Территория «Квартал А», 24 ФБУН ГНЦ ПМБ  
Телефон: (4967) 36-0773  
E-mail: ignatov@obolensk.org

Статья поступила 03.12.2021 г., принята к печати 27.12.2021 г.

### For correspondence:

Sergey G. Ignatov, PhD, DSc (Biological Sciences), Chief Researcher, Laboratory of Nanobiotechnology, State Research Center of Applied Microbiology and Biotechnology of the Rosпотребнадзор

Address: SRCAMB Bld. 24, "Quarter A" Territory, 142279, Obolensk, City District Serpukhov, Moscow Region, Russian Federation  
Phone: (4967) 360773  
E-mail: ignatov@obolensk.org

The article was received 03.12.2021, accepted for publication 27.12.2021

**Д**етекция патогенных биологических агентов (ПБА) является важнейшей задачей в предотвращении заболеваний, вызываемых патогенными микроорганизмами. Для контроля ПБА необходимы эффективные методы обнаружения, которые постоянно разрабатываются и модифицируются не только с помощью обычных микробиологических методов, но и с применением последних достижений в области физики, химии и других естественных наук. Стандартные микробиологические методы являются обычной практикой в течение почти столетия и по-прежнему успешно применяются для детектирования бактерий. Наряду с микробиологическими методами используются и другие подходы – хорошо известные методы оценки по потреблению кислорода [1, 2], иммунологические методы [3], применение атомно-силовой микроскопии для идентификации клеточных фрагментов [4] и система «искусственного носа» [5]. Рассмотрим наиболее популярные современные методы детекции ПБА.

### Микробиологические методы

Эти методы основаны на выделении ПБА из исследуемого образца путем посева на селективные питательные среды с последующей идентификацией микробиологическими, биохимическими и серологическими тестами. Однако все эти процедуры довольно длительны и требуют подготовленного персонала.

### Метод полимеразной цепной реакции (ПЦР)

ПЦР – это метод, разработанный в 1980-х гг., основанный на идентификации ПБА по наличию маркерных участков ДНК путем их амплификации при помощи специфических праймеров нуклеиновых кислот. По сравнению с микробиологическими методами молекулярные методы, обычно основанные на количественной оценке и идентификации конкретных геномных сегментов патогена, обеспечивают быстрое, высокоспецифичное и более чувствительное обнаружение ПБА.

Некоторыми примерами разработанных методов ПЦР для количественного определения бактерий являются ПЦР в реальном времени, мультиплексная ПЦР и ПЦР с обратной транскриптазой. ПЦР требует гораздо меньше времени, чем другие традиционные методы с использованием культивирования и посева бактерий. Анализ обычно занимает от 5 до 24 ч для получения результата, но это зависит от конкретной вариации ПЦР и исключает стадии обогащения. Мультиплексная ПЦР позволяет одновременно обнаруживать несколько организмов путем введения разных праймеров для амплификации участка ДНК, кодирующего специфические гены каждого бактериального штамма, являющегося мишенью. В режиме ПЦР в реальном времени можно получить более быстрые результаты без необходимости манипуляций. этапов распознавания. Результаты ПЦР в реальном времени получают путем обнаружения излучения флуоресценции специфического красителя, который прикрепляется к целевому ампликону. Основными недостатками метода являются длительность анализа и необходимость специального оборудования для обнаружения продуктов амплификации [6]. Кроме того, для проведения анализов необходим обученный персонал с экспериментальными навыками, что делает системы на основе ПЦР непрактичными в условиях ограниченных ресурсов [7, 8].

### Применение магнитных наночастиц на основе оксида железа в диагностике бактериальных инфекций

Инфекционные заболевания, вызванные бактериальными патогенами, приносят вред не только здоровью человека, но и экономике страны. Традиционный метод диагностики для выявления бактериальных патогенов часто основан на культивировании бактерий, что признано золотым стандартом в клинической диагностике бактериальных заболеваний [9]. Однако традиционный метод обнаружения, состоящий из культивирования, селективного обогащения и последующего применения инструментария детекции, является трудоемким и длительным (до 7 дней) процессом. Чтобы сократить время обнаружения и получить более точную информацию о бактериях, используются многие более продвинутые методы, включая иммуноферментные анализы [10], вестерн-блоттинг [11], ПЦР и полногеномное секвенирование [12]. Недостатком этих методов является то, что они нуждаются не только в точных и дорогих инструментах, но и в специально подготовленном персонале [13].

В течение последних нескольких лет магнитные наночастицы (МНЧ) на основе оксида железа широко изучались как платформы для обнаружения бактерий [14]. Кроме того, эти МНЧ широко используются для разделения/выделения бактерий [9], доставки лекарств [15], контрастных агентов для визуализации [16] и для магнитной гипертермии [15] для диагностики и лечения возбудителей бактериальных инфекций. Например, МНЧ могут быть функционализированы с помощью целевых молекул, таких как различные антитела, антибиотики, антимикробные пептиды, бактериофаги и аптамеры для разделения и концентрации бактерий [17]. На основе модификации поверхности МНЧ, конъюгированные с различными металлами, позволяют разрабатывать различные методы обнаружения бактерий, включая колориметрическое, флуоресцентное и поверхностно-усиленное рамановское обнаружение [18]. Помимо методов обнаружения *in vitro*, суперпарамагнитные НЧ на основе оксида железа также были продемонстрированы в качестве контрастных агентов для магнитно-резонансной томографии при визуализации бактерий *in vivo* [19]. Кроме того, МНЧ с уникальными магнитными свойствами и высокой удельной поверхностью показали большие перспективы в разработке новых антибактериальных препаратов [20].

Известно, что антитела, специфичные к различным бактериям, могут быть конъюгированы на поверхности МНЧ для селективного связывания и разделения бактерий. Для усиления иммобилизации антител использовались кластеры МНЧ, разработанные методом микроэмульсии [21]. МНЧ, покрытые олеиновой кислотой, использовались в качестве прекурсора для образования магнитных нанокластеров. Благодаря свободным карбоксильным группам вокруг нанокластеров они образовывали больше сайтов конъюгации для иммобилизации N- и O-антител.

Различные антибиотики, включая ванкомицин, амоксициллин, стрептавидин и другие, широко применяются в качестве агентов для борьбы с бактериями. Ванкомицин, который может связываться с бактериальной клеточной стенкой как граммотрицательных, так и грамположительных бактерий, был признан молекулой-мишенью для специфического бактериального обнаружения [22]. В качестве гликопептид-

ного антибиотика ванкомицин может распознавать бактерии благодаря своей способности взаимодействовать с пептидогликанами на стенке бактериальной клетки. Для грамположительных бактерий ванкомицин может связываться с D-аланил-D-аланином – концевыми остатками мукопептидов на стенке бактериальной клетки [22]. Для грамотрицательных бактерий ванкомицин может связываться с остатками L-лизин-D-аланина пептидогликанов, экспрессируемых на внешней мембране бактериальных клеток [22]. Таким образом, МНЧ, функционализированные ванкомицином, считаются привлекательным типом связывающего агента для эффективной концентрации множества штаммов бактерий.

### **Платформы на основе МНЧ для обнаружения бактерий *in vitro***

#### *Колориметрическое обнаружение*

Колориметрическое обнаружение – это качественный анализ, основанный на вызванных бактериями изменениях цвета, видимых невооруженным глазом. Платформы на основе МНЧ были разработаны для колориметрического обнаружения бактерий. МНЧ, модифицированные моноклональными антителами (mAb), непосредственно использовались для быстрого и точного обнаружения различных бактерий на основе изменений цвета, которые возникли из агрегатов МНЧ в процессе фильтрации. Во-первых, конъюгированные с антителом МНЧ использовали для концентрирования и очистки бактерии-мишени в магнитном поле. После фильтрации через мембрану конъюгаты МНЧ, связанные или не связанные с бактериями, могут быть легко разделены вакуумным давлением, а изменения цветовых сигналов, вызванные оставшимися МНЧ, отражают количество бактерий [23]. Для *Listeria monocytogenes* эффективность улавливания конъюгатов составляла от 48 до 89% для растворов с бактериальными клетками от  $2 \times 10^3$  до  $2 \times 10^1$ .

Наночастицы золота (Au), которые имеют отчетливые изменения цвета, вызванные агрегацией НЧ, являются наиболее распространенными НЧ благородных металлов, которые используются при колориметрическом обнаружении [18]. Как следствие, конъюгаты МНЧ-Au являются многообещающими платформами для обнаружения бактерий. Так были разработаны конъюгаты Au, покрытые МНЧ, для обнаружения *L. monocytogenes*. После модификации поверхности золотого датчика черные МНЧ закрывали цвет золотых НЧ. После расщепления пептидной последовательности протеазой *Listeria* цвет конъюгатов изменился с черного на золотой [24]. Колориметрический метод очень удобен и не требует сложного оборудования, поэтому может использоваться как быстрый, чувствительный и экономичный инструмент для обнаружения бактерий.

#### *Флуоресцентный анализ*

Флуоресцентный анализ является более чувствительным методом и предлагает более высокий предел обнаружения, чем колориметрические методы. Благодаря низкому фону, высокой чувствительности, высокой специфичности и простоте количественного анализа флуоресцентное обнаружение широко сочетается с МНЧ для обнаружения бактерий, поскольку это новая тенденция к разработке эффективных биосенсоров для клинического использования. Более того, платформа, состоящая из магнитных и флуоресцентных

устройств, позволяет количественно определять патогены в широком диапазоне концентраций.

#### *Комбинационное рассеяние с усилением поверхности*

Рамановская спектроскопия с усилением поверхности, или комбинационное рассеяние с усилением поверхности (SERS), – это поверхностно-чувствительный метод, который усиливает комбинационное рассеяние на молекулах, адсорбированных на шероховатых металлических поверхностях, или наноструктурами, такими как плазмонно-магнитные нанотрубки кремнезема.

Метод SERS позволяет избежать длительного времени на подготовку образца и используется для обнаружения бактерий благодаря огромному усилению рамановского сигнала. Чтобы максимально использовать SERS для обнаружения и мониторинга бактерий, желательно объединить платформу МНЧ с SERS для создания метода улавливания и обнаружения бактерий [25]. Недавно такие объединенные платформы были сконструированы и модифицированы различными целевыми молекулами, такими как ванкомицин, для широкого диапазона бактерий – МНЧ  $\text{Fe}_3\text{O}_4 @ \text{Ag}$  [13] и  $\text{Ag} @ \text{Fe}_3\text{O}_4$  [19]. Так, было продемонстрировано, что и *Escherichia coli*, и устойчивый к метициллину *Staphylococcus aureus* (MRSA) могут эффективно улавливаться модифицированными ванкомицином МНЧ  $\text{Fe}_3\text{O}_4 @ \text{Ag}$ .

Ранее было показано, что спектры комбинационного рассеяния света бактерий напрямую связаны с компонентами клеточной стенки бактерий. Таким образом, различия в компонентах клеточной стенки бактерий делают сигналы SERS уникальными для разных штаммов бактерий. Исходя из этого, комбинированная система показывает большой потенциал для обнаружения бактериальных инфекций. Оказалось, что основной пик комбинационного рассеяния ( $1331 \text{ см}^{-1}$ ) показывает линейную зависимость от логарифма концентраций бактерий в диапазоне от  $10^1$  до  $10^5$  клеток/мл.

#### **Магнитофоретическая хроматография**

При анализе следовых количеств патогенов можно получить ложноотрицательный сигнал, особенно когда для обнаружения используется небольшой объем образца. Кроме того, наличие различных примесей в образцах может мешать обнаружению и снизить чувствительность. Чтобы преодолеть эти ограничения, требуется процесс предварительной обработки, который отделяет и концентрирует целевые бактерии. Фильтрация и центрифугирование – обычные методы предварительной обработки бактериальных растворов [26]. Эти методы широко используются во многих областях, поскольку они просты, быстры и недороги. Однако фильтрация и центрифугирование включают несколько этапов концентрирования и промывки целевых бактерий, что приводит к повреждению бактерий и потере образца. Кроме того, эти методы трудно интегрировать с методами обнаружения, что ограничивает автоматизацию всего процесса и производства портативных устройств. Из-за этих ограничений методы предварительной обработки с использованием МНЧ привлекли большое внимание как многообещающая альтернатива.

Магнитная сепарация в основном использует МНЧ оксида железа ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ) для разделения и обогащения мишеней благодаря их уникальным свойствам, включая высокую магнитную восприимчивость, суперпарамагнетизм и биосовместимость.

На основе свойства суперпарамагнетизма МНЧ можно разделить с помощью внешнего магнитного поля и повторно диспергировать без агрегации частиц. Поверхность МНЧ может быть легко функционализирована с помощью ее обработки. Затем молекулы узнавания, такие как полимеры, аптамеры и антитела, фиксируются на обработанных поверхностях [27]. Когда МНЧ, функционализированные распознающими молекулами, связаны с бактериями, комплексы бактерии-МНЧ могут быть разделены с помощью постоянных магнитов с минимальным повреждением клеток [28]. Однако обычные методы разделения на основе МНЧ требуют нескольких этапов смешивания и переноса, таких как связывание, промывка и обогащение. Кроме того, по мере увеличения объема пробы для улавливания целевых бактерий требуется от 30 мин до нескольких часов.

Магнитная сепарация – это простой и быстрый тест. Однако связывание МНЧ с бактериями-мишенями требует времени, поскольку это происходит в результате броуновских столкновений МНЧ с бактериями-мишенями в растворе. Типичное время связывания (т.е. время захвата) составляет от 30 мин до нескольких часов, в зависимости от концентрации используемых МНЧ и объема образца. Когда постоянный магнит помещается рядом с пробой, содержащей раствор МНЧ, МНЧ выравниваются вдоль линий внешнего магнитного поля, образуя своеобразную полосу (то есть виртуальный фильтр). В отличие от обычных мембранных фильтров виртуальные фильтры, содержащие МНЧ, являются гибкими, что позволяет работать с наночастицами различного размера. В результате, когда в канал вводится раствор образца, содержащий целевые бактерии, виртуальный фильтр захватывает только их. Метод виртуального фильтра является наиболее эффективным с точки зрения времени захвата и эффективности разделения.

После отделения комплексов бактерии-МНЧ от раствора образца для обнаружения бактерий-мишеней можно использовать различные устройства, такие как оптические, электрохимические датчики и датчики магнитосопротивления. Подобные методы обнаружения уже обсуждались в многочисленных обзорных статьях. Наиболее чувствительный метод обнаружения использует оптические зонды, такие как наночастицы золота, флуоресцентные красители и квантовые точки [29]. Однако как комплексы бактерий с МНЧ, так и свободные МНЧ присутствуют в растворе после магнитной сепарации, поскольку концентрация используемых МНЧ намного выше, чем концентрация бактерий-мишеней. Поскольку присутствие свободных МНЧ мешает оптическим измерениям и снижает чувствительность обнаружения, были предприняты усилия по отделению комплексов бактерии-МНЧ от свободных МНЧ. После того, как комплексы бактерии-МНЧ отделены, концентрация бактерий может быть определена с помощью различных простых методов, таких как поглощение света или колориметрия. Магнитофоретическая хроматография является удобным методом отделения свободных МНЧ от комплексов «МНЧ – целевая бактерия». Хроматография – это метод разделения растворенных в жидкости смесей, который имеет широкое применение. Традиционная хроматография основана на различии сродства компонентов смеси к твердой неподвижной фазе, тогда как магнитофоретическая хроматография основана на различии скорости осаждения МНЧ разных размеров во внешнем магнитном поле. После

того, как смесь комплексов бактерия-МНЧ и свободных МНЧ помещается в определенный объем (например, эпендорф), туда добавляется раствор вязкого полиэтиленоксида, образуя несмешанный жидкий слой. Поверхностное натяжение жидкости увеличивается с увеличением вязкости жидкости. Когда постоянный магнит помещается под эпендорф, комплексы бактерия-МНЧ и свободные МНЧ испытывают магнитные, силовые и гравитационные силы, поскольку они притягиваются к магниту. Магнитная сила пропорциональна кажущемуся объему МНЧ, что указывает на то, что скорость оседания комплексов бактерия-МНЧ выше, чем у свободных МНЧ. В результате только комплексы бактерия-МНЧ с более высокой скоростью оседания могут преодолевать поверхностное натяжение и достигать дна эпендорфа, а целевые бактерии могут быть обнаружены непосредственно невооруженным глазом. Предел обнаружения магнитофоретической хроматографии в течение 10 мин составляет 100 КОЕ/мл.

### **Петлевая изотермическая амплификация (LAMP)**

В течение последних 20 лет изотермические тесты амплификации нуклеиновых кислот превратились в важный диагностический инструмент не только для клинического применения, но и для контроля качества пищевых продуктов и мониторинга окружающей среды. LAMP хорошо известна своей надежной, высокочувствительной и специфической амплификацией целевой ДНК, которая достигается за счет использования до шести праймеров. Кроме того, LAMP выделяется своими изотермическими и энергоэффективными требованиями к усилению, что делает ее главным кандидатом для недорогой диагностики и анализа в случае необходимости [30]. Ключевыми отличиями LAMP от ПЦР являются: 1) изотермическая амплификация при 60–65°C; 2) более высокая специфичность амплификации благодаря наличию нескольких праймеров, что уменьшает вероятность перекрестного взаимодействия при контаминации чужеродной ДНК; 3) визуализация продуктов реакции не требует агарозного электрофореза, так как побочным продуктом реакции является пирофосфат магния, вызывающий видимую невооруженным глазом мутность.

### **Заключение**

В настоящее время существует множество методов индикации и идентификации возбудителей инфекционных заболеваний, однако большинство из них требуют значительных затрат времени, специального оборудования и подготовленного персонала. Создание средств экспресс-идентификации возбудителей актуальных инфекций, применение которых возможно в лабораториях с минимальным оснащением, в том числе полевых и передвижных, является актуальной задачей.

На основании проделанного анализа индикации целевых ПБА-тест-систем перспективным сочетанием для выявления патогенов представляется использование магнитной сепарации, магнитофоретической хроматографии и амплификации нуклеиновых кислот (LAMP).

### **Информация о финансировании**

*Работа выполнена в рамках НИОКР 1.1.13.*

### **Funding information**

*The work was performed within the framework of R&D 1.1.13.*

### Конфликт интересов

Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

### Conflict of interests

Authors declare no conflict of interest requiring disclosure in this article.

### Литература / References

- Ignatov SG, Krasil'nikov VA, Perelygin VV, Kaprel'iants AS, Ostrovskii DN. Functional and structural changes of *E. coli* membranes induced by low temperature freezing. *Biokhimiia*. 1981 Nov;46(11):1996-2003. (In Russian).
- Ignatov SG, Andreeva OV, Evdokimova OA, Artsatbanov Vlu, Perelygin VV. Repair of membrane damage caused by low temperature freezing of *E. coli* cells. *Biokhimiia*. 1982 Oct;47(10):1621-8. (In Russian).
- Korolyova-Ushakova AG, et al. Comparative Characteristics of the Diagnostic Potential of Mycobacterial Synthetic Antigens for the Serodiagnosis of Leprosy and Tuberculosis. *Appl Biochem Microbiol*. 2019;55(6):696-703.
- Dubrovina EV, Fedyukina GN, Kraevskiy SV, Ignatyuk TE, Yaminsky IV, Ignatov SG. AFM Specific Identification of Bacterial Cell Fragments on Biofunctional Surfaces. *Open Microbiol J*. 2012;6:22-8. DOI: 10.2174/1874285801206010022
- Stitzel SE, et al. Artificial nose employing microsphere sensors for detection of volatile organic compounds. Edited by Jensen JL, Burggraf LW. Boston, 2002, p. 132-7.
- Marx V. PCR heads into the field. *Nat Methods*. 2015 Apr 29;12(5):393-7. DOI: 10.1038/nmeth.3369
- Gunda NSK, Mitra SK. Rapid water quality monitoring for microbial contamination. *Electrochem Soc Interface*. 2017;25:73-8.
- Song J, Mauk MG, Hackett BA, Cherry S, Bau HH, Liu C. Instrument-Free Point-of-Care Molecular Detection of Zika Virus. *Anal Chem*. 2016 Jul 19;88(14):7289-94. DOI: 10.1021/acs.analchem.6b01632
- Xu Y, Wang H, Luan C, Liu Y, Chen B, Zhao Y. Aptamer-based hydrogel barcodes for the capture and detection of multiple types of pathogenic bacteria. *Biosens Bioelectron*. 2018 Feb 15;100:404-410. DOI: 10.1016/j.bios.2017.09.032
- Liu CY, Weng CC, Lin CH, Yang CY, Mong KT, Li YK. Development of a novel engineered antibody targeting *Neisseria* species. *Biotechnol Lett*. 2017 Mar;39(3):407-413. DOI: 10.1007/s10529-016-2258-1
- Liana AE, Marquis CP, Gunawan C, Gooding JJ, Amal R. T4 bacteriophage conjugated magnetic particles for *E. coli* capturing: Influence of bacteriophage loading, temperature and tryptone. *Colloids Surf B Biointerfaces*. 2017 Mar 1;151:47-57. DOI: 10.1016/j.colsurfb.2016.12.009
- Váradí L, Luo JL, Hibbs DE, Perry JD, Anderson RJ, Orenge S, Groundwater PW. Methods for the detection and identification of pathogenic bacteria: past, present, and future. *Chem Soc Rev*. 2017 Aug 14;46(16):4818-4832. DOI: 10.1039/c6cs00693k
- Wang C, Gu B, Liu Q, Pang Y, Xiao R, Wang S. Combined use of vancomycin-modified Ag-coated magnetic nanoparticles and secondary enhanced nanoparticles for rapid surface-enhanced Raman scattering detection of bacteria. *Int J Nanomedicine*. 2018 Feb 27;13:1159-1178. DOI: 10.2147/IJN.S150336
- Wang J, Wu H, Yang Y, Yan R, Zhao Y, Wang Y, et al. Bacterial species-identifiable magnetic nanosystems for early sepsis diagnosis and extracorporeal photodynamic blood disinfection. *Nanoscale*. 2017 Dec 21;10(1):132-141. DOI: 10.1039/c7nr06373c
- Wang X, et al. Synthesis of chitosan/poly (ethylene glycol)-modified magnetic nanoparticles for antibiotic delivery and their enhanced anti-biofilm activity in the presence of magnetic field. *J Mater Sci*. 2018;53(9):6433-49.
- Li Y, Hu X, Ding D, Zou Y, Xu Y, Wang X, et al. In situ targeted MRI detection of *Helicobacter pylori* with stable magnetic graphitic nanocapsules. *Nat Commun*. 2017 Jun 15;8:15653. DOI: 10.1038/ncomms15653. Erratum in: *Nat Commun*. 2017 Aug 30;8:16154.
- Chen J, Andler SM, Goddard JM, Nugen SR, Rotello VM. Integrating recognition elements with nanomaterials for bacteria sensing. *Chem Soc Rev*. 2017 Mar 6;46(5):1272-1283. DOI: 10.1039/c6cs00313c
- Yuan P, Ding X, Yang YY, Xu QH. Metal Nanoparticles for Diagnosis and Therapy of Bacterial Infection. *Adv Healthc Mater*. 2018 Jul;7(13):e1701392. DOI: 10.1002/adhm.201701392
- Li H, et al. Diagnose Pathogens in Drinking Water via Magnetic Surface-Enhanced Raman Scattering (SERS) Assay. *Materials Today: Proceedings*. 2017;4(1):25-31.
- Ribeiro KL, Frias IAM, Franco OL, Dias SC, Sousa-Junior AA, Silva ON, et al. Clavanin A-bioconjugated Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/Silane core-shell nanoparticles for thermal ablation of bacterial biofilms. *Colloids Surf B Biointerfaces*. 2018 Sep 1;169:72-81. DOI: 10.1016/j.colsurfb.2018.04.055
- Kim YT, Kim KH, Kang ES, Jo G, Ahn SY, Park SH, et al. Synergistic Effect of Detection and Separation for Pathogen Using Magnetic Clusters. *Bioconjug Chem*. 2016 Jan 20;27(1):59-65. DOI: 10.1021/acs.bioconjchem.5b00681
- Wang CH, Chang CJ, Wu JJ, Lee GB. An integrated microfluidic device utilizing vancomycin conjugated magnetic beads and nanogold-labeled specific nucleotide probes for rapid pathogen diagnosis. *Nanomedicine*. 2014 May;10(4):809-18. DOI: 10.1016/j.nano.2013.10.013
- Kim SU, Jo EJ, Mun H, Noh Y, Kim MG. Ultrasensitive Detection of *Escherichia coli* O157:H7 by Immunomagnetic Separation and Selective Filtration with Nitroblue Tetrazolium/5-Bromo-4-chloro-3-indolyl Phosphate Signal Amplification. *J Agric Food Chem*. 2018 May 16;66(19):4941-4947. DOI: 10.1021/acs.jafc.8b00973
- Alhogail S, Suaifan GARY, Zourob M. Rapid colorimetric sensing platform for the detection of *Listeria monocytogenes* foodborne pathogen. *Biosens Bioelectron*. 2016 Dec 15;86:1061-1066. DOI: 10.1016/j.bios.2016.07.043
- Liu TY, Tsai KT, Wang HH, Chen Y, Chen YH, Chao YC, et al. Functionalized arrays of Raman-enhancing nanoparticles for capture and culture-free analysis of bacteria in human blood. *Nat Commun*. 2011 Nov 15;2:538. DOI: 10.1038/ncomms1546
- Kim JH, Oh SW. Optimization of Bacterial Concentration by Filtration for Rapid Detection of Foodborne *Escherichia coli* O157:H7 Using Real-Time PCR Without Microbial Culture Enrichment. *J Food Sci*. 2019 Nov;84(11):3241-3245. DOI: 10.1111/1750-3841.14836
- Chen Y, Liu Y, Shi Y, Ping J, Wu J, Chen H. Magnetic particles for integrated nucleic acid purification, amplification and detection without pipetting. *Trends Analyt Chem*. 2020 Jun;127:115912. DOI: 10.1016/j.trac.2020.115912
- Vinayaka AC, Ngo TA, Kant K, Engelsmann P, Dave VP, Shahbazi MA, Wolff A, Bang DD. Rapid detection of *Salmonella enterica* in food samples by a novel approach with combination of sample concentration and direct PCR. *Biosens Bioelectron*. 2019 Mar 15;129:224-230. DOI: 10.1016/j.bios.2018.09.078
- Chen C-X, Li Y-H, Zhou Y-L, et al. Rapidly detecting antibiotics with magnetic nanoparticle coated CdTe quantum dots. *RSC Adv*. 2020;10(4):1966-70.
- Becherer L, et al. Loop-mediated isothermal amplification (LAMP) – review and classification of methods for sequence-specific detection. *Anal Methods*. 2020;12(6):717-46.

#### Информация о авторе:

Бикетов Сергей Федорович, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник отдела иммунобиохимии патогенных микроорганизмов ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора  
 Адрес: 142279, Московская обл., г.о. Серпухов, р.п. Оболенск, Территория «Квартал А», 24 ФБУН ГНЦ ПМБ  
 Телефон: (4967) 36-0065  
 E-mail: biketov@obolensk.org

#### Information about authors:

Sergey F. Biketov, MD, PhD, Leading Researcher of the Department of Immunobiology of Pathogenic Microorganisms, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology, Rosпотребнадзор  
 Address: SRCAMB Bld. 24, "Quarter A" Territory, 142279, Obolensk, City District Serpukhov, Moscow Region, Russian Federation  
 Phone: (4967) 36-0065  
 E-mail: biketov@obolensk.org